



PCT/FR 2004 / 001630

REÇU 04 OCT. 2004

OMPI PCT

BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 05 JUIL. 2004

Pour le Directeur général de l'Institut
national de la propriété industrielle
Le Chef du Département des brevets

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M+Planche', enclosed within a large, loopy oval stroke.

Martine PLANCHE

DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS
CONFORMÉMENT À LA
RÈGLE 17.1.a) OU b)



26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

BREVET D'INVENTION CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI



N° 11354*03

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE

page 1/2



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 • W / 210502

REMISE DES PIÈCES DATE 27 JUIN 2003 LIEU 75 INPI PARIS N° D'ENREGISTREMENT 0307824 NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI 27 JUIN 2003		<input checked="" type="checkbox"/> NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE BECKER ET ASSOCIES 35 rue des Mathurins 75008 PARIS	
Vos références pour ce dossier (facultatif) B0221FR			
Confirmation d'un dépôt par télécopie		<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie	
2 NATURE DE LA DEMANDE		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
Demande de brevet initiale		N° _____ Date _____	
ou demande de certificat d'utilité initiale		N° _____ Date _____	
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		<input type="checkbox"/> N° _____ Date _____	
3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum) METHODES ET COMPOSITIONS POUR LE TRAITEMENT DE DEFICITS COGNITIFS.			
4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ <input type="checkbox"/> S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»	
5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)		<input checked="" type="checkbox"/> Personne morale <input type="checkbox"/> Personne physique	
Nom ou dénomination sociale		ExonHit Therapeutics SA	
Prénoms			
Forme juridique		Société Anonyme	
N° SIREN		4 1 4 4 8 8 1 7 1	
Code APE-NAF			
Domicile ou siège		26 rue Brunel	
Rue			
Code postal et ville		75 017 Paris	
Pays		FRANCE	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)		N° de télécopie (facultatif)	
Adresse électronique (facultatif)			
<input type="checkbox"/> S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»			

Remplir impérativement la 2^{ème} page

REMISE DES PIÈCES
DATE **27 JUIN 2003**
LIEU **75 INPI PARIS**
N° D'ENREGISTREMENT
NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

Réservé à l'INPI

0307824

DB 540 W / 210502

6 MANDATAIRE (s'il y a lieu)	
Nom	BECKER
Prénom	Philippe
Cabinet ou Société	BECKER ET ASSOCIES
N° de pouvoir permanent et/ou de lien contractuel	n°97-0800
Adresse	35 rue des Mathurins
Rue	
Code postal et ville	75 008 Paris
Pays	
N° de téléphone (facultatif)	01 53 43 85 00
N° de télécopie (facultatif)	01 53 43 85 05
Adresse électronique (facultatif)	becker@becker.fr
7 INVENTEUR (S)	
Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques	
Les demandeurs et les inventeurs sont les mêmes personnes	<input type="checkbox"/> Oui <input checked="" type="checkbox"/> Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)
8 RAPPORT DE RECHERCHE	
Uniquement pour une demande de brevet (y compris division et transformation)	
Établissement immédiat ou établissement différé	<input checked="" type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
Paiement échelonné de la redevance (en deux versements)	Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt <input type="checkbox"/> Oui <input type="checkbox"/> Non
9 RÉDUCTION DU TAUX DES REDEVANCES	
Uniquement pour les personnes physiques <input type="checkbox"/> Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition) <input type="checkbox"/> Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence): AG [] [] [] [] []	
10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES ET/OU D'ACIDES AMINÉS	
<input type="checkbox"/> Cochez la case si la description contient une liste de séquences	
Le support électronique de données est joint	<input type="checkbox"/>
La déclaration de conformité de la liste de séquences sur support papier avec le support électronique de données est jointe	<input type="checkbox"/>
Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite», indiquez le nombre de pages jointes	
11 SIGNATURE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire) BECKER Philippe CPI n°97-0800	
VISA DE LA PRÉFECTURE OU DE L'INPI MME BLANCANEUX	

Méthodes et compositions pour le traitement
de déficits cognitifs

La présente invention concerne le domaine de la biologie, de la génétique et de la médecine. Elle concerne notamment de nouvelles compositions et méthodes pour le traitement de pathologies neurodégénératives, et notamment pour améliorer, augmenter ou faciliter la cognition de sujets atteints de pathologies neurodégénératives. L'invention repose plus particulièrement sur l'utilisation de composés ligand de récepteur périphérique aux benzodiazépines, de préférence de la famille des pyrazolopyridines, pour améliorer les facultés cognitives de sujets atteints de maladie neurodégénérative. L'invention est utilisable pour l'amélioration de la condition de sujets atteints de diverses pathologies neurodégénératives, et tout particulièrement de la maladie d'Alzheimer.

De nombreuses pathologies neurodégénératives ont été décrites comme ayant uné composante ou un stade lié au phénomène d'apoptose ou mort cellulaire programmée. On peut citer aussi bien les pathologies neurodégénératives du système nerveux central (par exemple l'ALS, la maladie de Parkinson ou la maladie d'Alzheimer), que les maladies dégénératives périphériques, notamment oculaires. Ces pathologies disposent actuellement de traitements symptomatiques, notamment de traitement des phénomènes inflammatoires associés, mais pas de traitement des causes réelles de ces désordres, en raison notamment de la complexité des mécanismes et voies métaboliques impliqués, et de la diversité des facteurs causatifs.

La demande de brevet internationale n° WO03/016563 déposée par la demanderesse décrit de nouvelles cibles moléculaires de la neurotoxicité, ainsi que de nouvelles approches thérapeutiques pour le traitement des pathologies neurodégénératives. Ces approches sont basées sur une modulation de l'activité ou de l'expression d'une phosphodiesterase de type 4. La demande française n° FR0302021, déposée par la demanderesse, propose de nouvelles approches de traitement des pathologies dégénératives oculaires basées sur

une modulation de l'activité ou de l'expression d'une phosphodiesterase de type 4.

La présente demande concerne maintenant de nouvelles stratégies
5 thérapeutiques de maladies neurodégénératives dans lesquelles les fonctions
cognitives sont altérées, comme observé dans la maladie d'Alzheimer. Ces
stratégies sont basées sur une modulation d'une ou plusieurs voies
métaboliques identifiées par les inventeurs, qui sont corrélées à l'apparition, au
développement et à la progression de l'excitotoxicité et de l'apoptose dans les
10 cellules nerveuses, et sont particulièrement pertinentes dans les maladies
neurodégénératives. De plus, la présente invention fournit un rationnel à
l'utilisation d'agents pharmacologiques destinés à interagir avec le récepteur
périphérique aux benzodiazépines (PBR) afin de moduler la synthèse de
neurostéroïdes par les neurones et les cellules gliales. Notamment, la présente
15 demande permet d'établir un lien entre modification d'un des constituants du
récepteur périphérique aux benzodiazépines et la progression d'une
neurodégénérescence associée au phénomène d'excitotoxicité. Ce lien a
permis de démontrer qu'un composé chimique, l'étazolate, appartenant à la
classe des pyrazolopyridines, capable d'interagir avec le récepteur périphérique
20 aux benzodiazépines, présente des propriétés neuroprotectrices contre
l'excitotoxicité. Le récepteur périphérique aux benzodiazépines joue un rôle-clef
dans la synthèse des neurostéroïdes dont la pregnenolone sulfate. La présente
invention documente la capacité de pyrazolopyridines, dont l'étazolate, à
stimuler la synthèse de neurostéroïdes dont la pregnenolone sulfate. Il a été
25 démontré et rapporté dans la littérature que chez le rat, la pregnenolone sulfate
stimule la neurotransmission dépendante de l'acétylcholine dans l'amygdale, le
cortex et l'hippocampe et augmente les performances de la mémoire chez le rat.
Les fonctions cognitives sont altérées chez les patients atteints de la maladie
d'Alzheimer. Cela reflète une diminution de la neurotransmission dépendante de
30 l'acétylcholine chez ces patients. D'autre part, il a également été montré chez de
tels patients une diminution de la concentration de pregnenolone sulfate dans

les différentes aires cérébrales par rapport à des cerveaux contrôles. Cette diminution est corrélée à la présence de plaques de peptides beta-amyloïdes.

La présente demande fournit maintenant un rationnel pour l'utilisation de pyrazolopyridines, dont l'étazolate, pour le traitement des déficits cognitifs
 5 notamment ceux induits par la maladie d'Alzheimer, et propose de nouvelles stratégies thérapeutiques destinées à améliorer la condition de patients atteints de maladie neurodégénérative, notamment à traiter ou réduire les troubles cognitifs chez des patients atteints de maladie neurodégénérative.

10 Plus particulièrement, l'invention découle de l'indentification d'un répertoire des altérations d'épissages dans le cerveau d'animaux modèles de l'ALS âgés de 60 jours a été effectuée par criblage différentiel qualitatif selon la technique DATAS (décrite dans la demande n° WO99/46403). Ce répertoire a été construit à partir d'ARN extraits d'échantillons de cerveau et de moelle épinière, sans isolement
 15 préalable des neurones, afin de prendre en compte un maximum d'évènements d'épissages alternatifs liés au développement de la pathologie. Le répertoire ainsi produit contient plus de 200 séquences distinctes, impliquant des acteurs clefs du phénomène d'excitotoxicité tels que les canaux potassiques et le récepteur NMDA. La spécificité des séquences qui constituent ce répertoire est
 20 attestée par le fait que la même analyse différentielle qualitative de l'expression génétique réalisée sur des animaux âgés de 90 jours aboutit à un répertoire différent dont sont absents notamment les différents marqueurs de l'excitotoxicité. L'analyse des modifications d'épissage confirme que les évènements moléculaires sont différents selon le stade de la pathologie.

25

De manière particulièrement intéressante et inattendue, la réalisation de DATAS sur des ARN d'animaux contrôles et transgéniques âgés de 60 jours a permis d'isoler un fragment d'ADNc dérivés de l'ARNm de de PRAX-1.

L'identification d'un fragment dérivé de PRAX-1 (ou *PBR-IP* pour « *peripheral benzodiazepine receptor interacting protein* »)
 30 démontre ainsi l'implication de cette protéine dans le développement des processus d'excitotoxicité et de mort neuronale. Prax-1 interagit avec le récepteur périphérique aux benzodiazépines

(PBR), qui participe à la régulation de l'ouverture du pore mitochondrial de transition, ouverture qui caractérise l'exécution de l'apoptose. Par conséquent l'invention suggère que Prax-1 régule l'implication du PBR dans les phénomènes de morts cellulaires tels la mort neuronale.

5

La présente invention décrit donc un événement moléculaire original qui aboutit à une altération de l'expression de l'ARNm de la Prax-1 dans le cerveau de sujets pathologiques, et qui sont corrélés dans le temps avec le phénomène d'excitotoxicité et/ou de mort neuronale. Cette voie de signalisation, notamment
10 représentée par Prax-1 et le PBR, constitue une cible thérapeutique nouvelle et importante dans le développement de thérapeutiques des pathologies neurodégénératives et s'adressant aux véritables bases moléculaires de la pathologie et non aux symptômes ou composantes inflammatoires associées.

15 La possibilité d'affecter cette voie de signalisation peut conduire à des traitements particulièrement efficaces des pathologies neurodégénératives, notamment des maladies dégénératives associées à une altération des fonctions cognitives comme la maladie d'Alzheimer.

20 La présente invention justifie donc l'emploi de composés de la famille des pyrazolopyridines, dont l'étazolate, pour le traitement de maladies neurodégénératives, dont la maladie d'Alzheimer, pour leurs effets neuroprotecteurs d'une part ainsi que pour les effets sur la production pregnenolone sulfate.

25 Il est également rapporté que l'étazolate et la pregnenolone sulfate sont des ligands et vraisemblablement des agonistes du récepteur GABAA. Ces propriétés participent à la régulation négative de l'excitotoxicité.

L'action bénéfique, dans une pathologie neurodégénérative comme la maladie d'Alzheimer, de l'étazolate et d'autres pyrazolopyridines peut donc s'expliquer
30 par un double impact au niveau du récepteur GABAA et du PBR. L'action au niveau du PBR, en stimulant la production d'un autre agoniste du récepteur GABAA, la pregnenolone sulfate, permet non seulement de supporter les

fonctions cognitives en stimulant la libération d'acétylcholine, mais aussi d'amplifier l'action agoniste sur le récepteur GABAA via la pregnenolone sulfate.

5 Un premier aspect de l'invention concerne donc l'utilisation d'un ligand du récepteur périphérique aux benzodiazépines (PBR) pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des pathologies neurodégénératives, notamment de la maladie d'Alzheimer.

10 Un autre aspect de l'invention réside dans l'utilisation d'un ligand d'un PBR (de préférence un PBR humain), de préférence un ligand de la famille des pyrazolopiridine, pour traiter ou améliorer le déficit cognitif chez des sujets atteints de pathologie neurodégénérative, notamment de la maladie d'Alzheimer.

15 L'avantage d'utiliser un ligand du récepteur périphérique aux benzodiazépines selon l'invention est renforcé par le fait que le PBR est impliqué dans la synthèse de neurostéroïdes. Il a été montré que certains neurostéroïdes, dont la pregnenolone, sont capables de stimuler les transmissions synaptiques dépendantes de l'acétylcholine et d'améliorer les fonctions cognitives.

20 Par conséquent la présente invention fournit le rationnel pour utiliser un composé de la famille des pyrazolopyridines, ligand du PBR, pour le traitement des maladies neurodégénératives et les déficits cognitifs.

25 La présente invention concerne donc, de manière générale, l'utilisation de ligands de PBR pour le traitement de maladies neurodégénératives, notamment de déficits cognitifs associés aux maladies neurodégénératives.

30 Un objet particulier de l'invention réside donc dans l'utilisation d'un ligand de PBR pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des déficits cognitifs chez les patients atteints de maladies neurodégénératives.

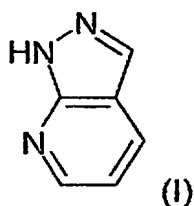
Un autre objet de l'invention réside dans une méthode pour augmenter la cognition ou la perception cognitive chez des patients atteints de maladie neurodégénérative, comprenant l'administration à un sujet d'un composé tel que
5 défini ci-avant. Avantageusement, la méthode de l'invention permet en outre d'inhiber ou réduire l'excitotoxicité neuronale lors des maladies neurodégénératives.

Dans le contexte de l'invention, le terme « traitement » désigne le traitement
10 préventif, curatif, palliatif, ainsi que la prise en charge des patients (réduction de la souffrance, amélioration de la durée de vie, ralentissement de la progression de la maladie, amélioration de la survie des neurones, protection des neurones contre l'excitotoxicité ou l'apoptose, etc.), etc. Le traitement peut en outre être réalisé en combinaison avec d'autres agents ou traitements, notamment
15 adressant les événements tardifs de la pathologie, tels que des inhibiteurs de caspases ou autres composés actifs.

L'invention est particulièrement adaptée au traitement des déficits cognitifs chez les sujets, c'est-à-dire à la réduction de ces effets et/ou à l'amélioration de la
20 perception cognitive chez les patients.

Le composé utilisé pour le traitement peut être tout composé chimique, d'origine naturelle ou synthétique, notamment une molécule organique ou inorganique, d'origine végétale, bactérienne, virale, animale, eucaryote, synthétique ou semi-
25 synthétique, capable de moduler l'expression ou l'activité du récepteur PBR.

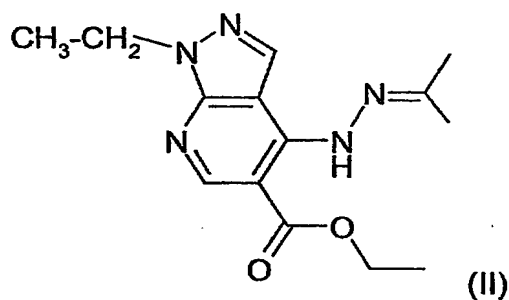
Dans une variante préférée, on utilise un composé de la famille des pyrazolopyridines, capable de lier le PBR. Un composé de la famille des pyrazolopyridine désigne tout composé de formule (I) suivante, qui peut être
30 substitué ou non.



Les composés de la famille des pyrazolopyridines utilisés dans la présente invention sont en particulier choisis parmi les composés suivants :

5

- L'étazolate de formule (II) suivante :



10 l'étazolate constituant un mode de mise en œuvre préféré de l'invention,

- Ester éthylique de l'acide 4-butylamino-1-ethyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique (tracazolate),

15 - Ester éthylique de l'acide 4-butylamino-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- 1-(4-amino-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-1-yl)-β-*D*-1-deoxy-ribofuranose

20 - Ester éthylique de l'acide 1-ethyl-4-(*N'*-isopropylidene-hydrazino)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique (SQ 20009),

- 4-amino-6-méthyl-1-*n*-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine

25 - Ester éthylique de l'acide 4-Amino-1-ethyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique (desbutyl tracacolate),

- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxamide,

30 - Ester éthylique de l'acide 1-ethyl-6-méthyl-4-méthylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- Ester éthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-propyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- Ester éthylique de l'acide 1-éthyl-4-éthylamino-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- Ester éthylique de l'acide 4-amino-1-butyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 5-(4-amino-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-1-yl)-2-hydroxyméthyl-tetrahydro-furan-3-ol,
- ester allylique de l'acide 1-allyl-4-amino-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- acide 4-amino-6-méthyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 4-amino-1-éthyl-3,6-diméthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 4-diméthylamino-1-éthyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 1-éthyl-6-méthyl-4-propylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pent-4-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-1-but-3-enyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-allylamide,
- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-isopropylamide,
- 4-amino-1-pentyl-N-n-propyl-1*H*-pyrazolo-[3,4-*b*]pyridine-5-carboxamide,
- ester allylique de l'acide 4-amino-1-butyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-prop-2-ynylamide
- ester allylique de l'acide 4-amino-1-(3-méthyl-butyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo<3,4-*b*>pyridine-5-*N*-(2-propenyl)carboxamide,
- ester allylique de l'acide 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 5 - 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-butylamide,
- ester allylique de l'acide 4-amino-1-but-3-ynyl-6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 10 - ester allylique de l'acide 4-amino-1-but-3-enyl-6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-allylamide,
- 15 - ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-(3-methyl-butyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 20 - ester isobutylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 25 - 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-butylamide,
- ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-(3-methyl-but-2-enyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 30 - 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-cyclopropylamide,
- ethyl 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-hydroxamate,
- 35 - ester prop-2-ynylque de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pent-4-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 40 - ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pent-4-enyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-propylamide,
- 45 - 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-cyclopropylmethyl-amide,
- ester 2-méthyl-allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- 4-Amino-1-pent-3-ynyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-allylamide (ICI 190,622),
- 5 - 4-amino-1-pent-4-ynyl-N-2-propenyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxamide,
- 4-amino-1-pent-3-ynyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-prop-2-ynylamide,
- 4-amino-1-pentyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-but-2-ynylamide,
- 10 - ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pent-3-ynyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- ester allylique de l'acide 4-amino-1-(2-cyclopropyl-ethyl)-6-methyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- 15 - ester allylique de l'acide 4-amino-1-hex-5-ynyl-6-methyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- 20 - 4-amino-1-pent-3-ynyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-cyclopropylmethyl-amide,
- ester but-3-énylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- 25 - ester cyclopropylmethylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- 4-butylamino-1-pentyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-allylamide,
- 30 - ester 2-cyclopropyl-ethylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- ester cyclopropylmethylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pent-3-ynyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- 35 - ester cyclopropylmethylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pent-4-ynyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 4-amino-1-benzyl-6-methyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,
- 40 - 4-amino-1-pentyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-benzylamide,
- 4-amino-1-pentyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-phenylamide,
- 45 - ester benzylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,

- 4-Azido-1- β -D-ribofuranosylpyrazolo[3,4-*b*]pyridine,
- 1-pent-3-ynyl-N-2-propenyl-4-propionamido-1H-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxamide,
- 5 - 2-(4-amino-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-1-yl)-5-hydroxymethyl-tetrahydro-furan-3,4-diol,
- 2-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-ethanol,
- 10 - 3-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-propan-1-ol,
- ester propylique de l'acide 3-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-acétique,
- 15 - ester éthylique de l'acide 2-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-propionique,
- ester éthylique de l'acide 2-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-pentanoïque,
- 20 - ester éthylique de l'acide 2-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-benzoïque,
- ester propylique de l'acide 3-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-pentanoïque,
- 25 - *N*-benzylidene-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazine,
- 30 - *N*-furan-2-ylmethylene-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazine,
- *N*-(4-fluoro-benzylidene)-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazine,
- 35 - *N*-(3-furan-2-yl-allylidene)-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazine,
- *N*-(4-methoxy-benzylidene)-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazine,
- 40 - 4-[(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazonomethyl]-benzonitrile,
- 45 - *N*-benzo[1,3]dioxol-5-ylmethylene-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazine,

- *N*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(4-nitro-benzylidene)-hydrazine,
- 5 - *N*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(2-nitro-benzylidene)-hydrazine,
- *N*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(4-trifluoromethyl-benzylidene)-hydrazine,
- 10 - *N*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(5-nitro-furan-2-ylmethylene)-hydrazine,
- *N*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(2-trifluoromethyl-benzylidene)-hydrazine,
- 15 - *N*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(6-nitro-benzo[1,3]dioxol-5-ylmethylene)-hydrazine,
- Acide 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 20 - 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-(pyridin-4-ylmethyl)-amide,
- 25 - 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-(tetrahydro-furan-2-ylmethyl)-amide,
- 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-(5-hydroxy-pentyl)-amide,
- 30 - 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-[3-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-propyl]-amide,
- ester éthylique de l'acide 4-*tert*-butylamino-1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 35 - ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-cyclopropylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 40 - ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-propylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-phenylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 45 - ester éthylique de l'acide 4-butylamino-1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-(2-ethoxy-ethylamino)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,

5 - ester éthylique de l'acide 4-benzylamino-1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique,

- ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-phenethylamino-1H-pyrazolo[3,4-b]pyridine-5-carboxylique.

10 Les composés peuvent être sous forme de sel, ester, racémique, isomère actif, etc. La capacité des composés à lier un récepteur PBR peut être vérifiée in vitro, par mise en contact du composé avec tout ou partie d'un PBR. De préférence, elle est vérifiée dans un test cellulaire, qui peut être un test de liaison ou un test fonctionnel, typiquement un test de liaison en présence d'un ligand marqué du
15 récepteur. Le PBR considéré est préférentiellement un PBR humain, dont la séquence est accessible dans la littérature (Gene 155 (2), 201-205 (1995) ; GeneBank n° P30536, NP009295 ; NP000705). Un composé tout particulièrement préféré est l'étazolate, le Tracazolate ou le Cartazolate, plus préférentiellement l'étazolate.

20

La présente invention propose ainsi, pour la première fois, le PBR comme cible thérapeutique pour le traitement des déficits cognitifs associés aux maladies neurodégénératives. Selon des modes de mise en œuvre particuliers, l'invention peut être utilisée pour traiter les déficits cognitifs en phase précoce de ces
25 maladies. Elle est applicable notamment dans le cas de la maladie d'Alzheimer, de la chorée de Huntington et la maladie de Parkinson.

Un objet tout particulier de l'invention réside dans l'utilisation d'un composé pyrazolopyridine, ligand d'un récepteur périphérique aux benzodiazépines, pour
30 la préparation d'un médicament pour traiter le déficit cognitif chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer.

Les composés peuvent être formulés et administrés de différentes façons. L'administration peut être réalisée par toute méthode connue de l'homme du
35 métier, de préférence par voie orale ou par injection, systémique ou locale.

L'injection est typiquement réalisée par voie intra-oculaire, intra-péritonéale, intra-cérébrale, intra-veineuse, intra-artérielle ou intra-musculaire. L'administration par voie orale ou systémique est préférée. Les doses administrées peuvent être adaptées par l'homme de l'art. Typiquement, de 0,01 mg à 100 mg / kg environ sont injectés, pour des composés inhibiteurs de nature chimique. Il est entendu que des injections répétées peuvent être réalisées, éventuellement en combinaison avec d'autres agents actifs ou tout véhicule acceptable sur le plan pharmaceutique (ex., tampons, solutions saline, isotonique, en présence d'agents stabilisants, etc.).

10

L'invention est utilisable chez les mammifères, notamment chez l'être humain. Les résultats présentés dans les exemples illustrent l'efficacité de l'étazolate pour améliorer la viabilité de neurones placés en conditions d'excitotoxicité.

15 L'invention permet également le développement de tests, kits ou procédés de détection, dépistage ou diagnostic in vitro de ces pathologies, basés sur une détermination de la présence d'une dérégulation ou d'une altération dans un gène, un messenger ou une protéine PRAX-1, chez un sujet. L'invention fournit également des outils pour la mise en œuvre de tels tests, notamment des sondes, amorces, cellules, réactifs, etc.

20

L'invention fournit également des tests ou procédés pour cribler des molécules candidates pour le traitement des maladies dégénératives, comprenant la détermination de la capacité des molécules à lier le récepteur PBR e/ou Prax-1.

25

D'autres aspects et avantages de la présente invention apparaîtront à la lecture des exemples qui suivent, qui doivent être considérés comme illustratifs et non limitatifs.

30

LEGENDE DES FIGURES

Figure 1: Effet neuroprotecteur de l'étazolate sur la toxicité induite par NMDA/serine sur les cellules granulaires du cervelet.

Figure 2: Effet neuroprotecteur de l'étazolate sur la toxicité induite par le kainate sur les cellules granulaires du cervelet.

5 Figure 3: Effet neuroprotecteur de l'étazolate sur la toxicité induite par NMDA/serine sur les neurones corticaux.

Figure 4: Effet neuroprotecteur de l'étazolate sur la toxicité induite par le kainate sur les neurones corticaux.

10 **EXEMPLES**

Exemple 1 : Identification de la PDE4 et de PBR comme cibles moléculaires de l'excitotoxicité

15 L'analyse qualitative différentielle a été effectuée à partir d'ARN poly adénylés (poly A+) extraits d'échantillons de cerveaux d'animaux correspondant aux différents stades, sans isolement préalable des neurones afin de prendre en compte un maximum d'évènements d'épissages alternatifs liés au développement de la pathologie.

20 Les ARN poly A+ sont préparés selon des techniques connues de l'homme de métier. Il peut s'agir en particulier d'un traitement au moyen d'agents chaotropiques tels que le thiocyanate de guanidium suivi d'une extraction des ARN totaux au moyen de solvants (phénol, chloroforme par exemple). De telles méthodes sont bien connues de l'homme du métier (voir Maniatis et al.,
25 Chomczynski et al., Anal. Biochem. 162 (1987) 156), et peuvent être aisément pratiquées en utilisant des kits disponibles dans le commerce. A partir de ces ARN totaux, les ARN poly A+ sont préparés selon des méthodes classiques connues de l'homme de métier et proposées par des kits commerciaux.

Ces ARN poly A+ servent de matrice à des réactions de transcription inverse à
30 l'aide de reverse transcriptase. Avantagusement sont utilisées des reverse transcriptases dépourvues d'activité RNase H qui permettent d'obtenir des premiers brins d'ADN complémentaire de tailles supérieures à ceux obtenus

avec des reverse transcriptases classiques. De telles préparations de reverse transcriptases sans activité RNase H sont disponibles commercialement.

Pour chaque point de la cinétique de développement de la pathologie (30 jours, 60 jours et 90 jours) les ARN poly A+ ainsi que les ADNc simple brins sont
5 préparés à partir des animaux transgéniques (T) et des animaux contrôles syngéniques (C).

Conformément à la technique DATAS, pour chaque point de la cinétique sont réalisées des hybridations d'ARNm (C) avec des ADNc (T) et des hybridations réciproques d'ARNm (T) avec des ADNc (C).

10 Ces hétéroduplex ARNm/ADNc sont ensuite purifiés selon les protocoles de la technique DATAS.

Les séquences d'ARN non appariées avec un ADN complémentaire sont libérées de ces hétéroduplex sous l'action de la RNase H, cette enzyme dégradant les séquences d'ARN appariées. Ces séquences non appariées
15 représentent les différences qualitatives qui existent entre des ARN par ailleurs homologues entre eux. Ces différences qualitatives peuvent être localisées n'importe où sur la séquence des ARN, aussi bien en 5', 3' ou à l'intérieur de la séquence et notamment dans la séquence codante. Selon leur localisation, ces séquences peuvent être non seulement des modifications d'épissage mais
20 également des conséquences de translocations ou de délétions.

Les séquences d'ARN représentant les différences qualitatives sont ensuite clonées selon les techniques connues de l'homme de métier et notamment celles décrites dans le brevet de la technique DATAS.

Ces séquences sont regroupées au sein de banques de cDNA qui constituent
25 des banques qualitatives différentielles. Une de ces banques contient les exons et les introns spécifiques de la situation saine ; les autres banques contiennent les événements d'épissage caractéristiques des conditions pathologiques.

L'expression différentielle des clones a été vérifiée par hybridation avec des sondes obtenues par reverse-transcription à partir d'ARN messagers extraits
30 des différentes situations étudiées. Les clones hybridant de façon différentielle ont été retenus pour analyse ultérieure. Les séquences identifiées par DATAS correspondent à des introns et/ou à des exons exprimées de façon différentielle

par épissage entre les situations pathologiques et la situation saine. Ces événements d'épissage peuvent être spécifiques d'une étape donnée du développement de la pathologie ou caractéristiques de l'état sain.

- 5 La comparaison de ces séquences avec les banques de données permet de classifier les informations obtenues et de proposer une sélection raisonnée des séquences selon leur intérêt diagnostique ou thérapeutique.

La réalisation de DATAS sur des ARN d'animaux contrôles et transgéniques
 10 âgés de 60 jours a permis d'isoler un fragment d'ADNc dérivé de l'ARNm de PRAX-1 ou PBR-IP (peripheral benzodiazepine receptor interacting protein). Ce fragment correspond à un fragment d'exon spécifiquement présent dans les animaux contrôles et donc spécifiquement délété dans les animaux transgéniques pour SOD1G93A au stade 60 jours. Ce fragment est homologue
 15 aux nucléotides 791 à 820 de la séquence humaine référencée dans GenBank sous le n°AF039571. Cette région est codante et est exprimée différemment entre les animaux contrôles et les animaux transgéniques, du fait d'un épissage alternatif.

20

Exemple 2 : Inhibition de l'excitotoxicité par des ligands de PBR

Pour cet exemple, des neurones granulaires du cervelet de rat ainsi que des neurones corticaux ont été mis en culture selon les techniques connues de
 25 l'homme de métier.

Culture primaire des cellules granulaires de cervelet :

Les rats Wistar âgés de sept jours sont décapités et leurs cervelets sont disséqués. Après avoir enlevé les méninges, le tissu est coupé en petits
 30 morceaux et trypsinisé pendant 15 minutes à 37°C. Les cellules sont dissociées par trituration et mises en cultures à une densité 300.000 cellules par cm² dans du milieu basal Eagle supplémenté avec 10% du sérum de veau foetal et 2 mM

glutamine. Le lendemain 10 μ M ARA-C, un anti-mitotique, est ajouté pour empêcher la prolifération des cellules gliales. Les cellules sont traitées le jour 9 de cultures avec le composé inhibiteur étazolate, trois heures avant l'addition des toxiques, 50 μ M kainate ou 100 μ M N-méthyl-D-aspartate en présence de 10 μ M D-sérine. Le 8-bromo-cAMP est ajouté juste avant les toxiques. Tous les traitements sont effectués au minimum en double et dans au moins deux cultures différentes. Après une incubation de six heures la toxicité est mesurée par un test MTT. Les résultats, normalisés à la moyenne du non-traité, sont statistiquement analysés par le test de Wilcoxon. La valeur significative est déterminée à p inférieur ou égal à 0.05.

Cultures primaires des cellules corticales :

Des embryons de rat Wistar, âgés de 16 jours, sont prélevés et les cortex sont disséqués. Après la trypsination à 37°C pendant 25 minutes, les cellules sont dissociées par trituration. Les cellules sontensemencées dans du milieu essentiel minimum, supplémenté avec 10% de sérum de cheval et 10% de sérum de veau fœtal et 2 mM glutamine, à une densité de 300.000 cellules par cm^2 . Après 4 jours en culture la moitié du milieu est changée avec du milieu essentiel minimum supplémenté avec 5% de sérum de cheval et 2 mM glutamine. Le même jour, 10 μ M de 5-fluoro-2-deoxyuridine, un anti-mitotique, est ajouté. Après sept et onze jours de culture, la moitié du milieu est changée par du milieu conditionné. Le milieu conditionné est composé de MEM contenant 5 % de sérum de cheval et 2 mM glutamine ; ce milieu est passé sur un tapis d'astrocytes corticales pendant une nuit avant son utilisation. A jour 14, les cellules sont traitées avec le composé inhibiteur étazolate, une heure avant l'addition des toxiques, 50 μ M kainate ou 20 μ M N-méthyl-D-aspartate en présence de 10 μ M D-sérine. Tous les traitements sont effectués au minimum en double et dans au moins deux cultures différentes. Après une incubation de six heures la toxicité est mesurée par un test MTT. Les résultats, normalisés à la moyenne du non-traité, sont statistiquement analysés par le test de Wilcoxon. La valeur significative est déterminée à p inférieur ou égal à 0.05.

MTT:

La toxicité est mesurée en utilisant le test MTT. Après l'incubation avec les composés, du MTT est ajouté à une concentration finale de 0.5 mg/ml par puits. Les plaques sont ensuite incubées pendant 30 minutes à 37 °C dans le noir. Le milieu est aspiré et les cristaux sont resuspendus dans 500 µl de DMSO (dimethylsulfoxyde). L'absorbance à 550 nm est lue et le pourcentage de viabilité est calculé.

Résultats :

10

Les résultats obtenus sont présentés sur les figures 1-4. Ces résultats illustrent l'effet protecteur des composés de l'invention sur la survie neuronale. Lors du co-traitement des neurones par un inhibiteur de l'invention, un effet protecteur dose-dépendent est observé dans les deux modes d'induction de l'excitotoxicité (NMDA/Serine et kainate).

15

Les figures 1 et 2 présentent des résultats obtenus à l'aide de l'étazolate sur les cellules granulaires du cervelet. Les résultats présentés montrent que l'étazolate permet d'atteindre sur ces cellules un effet protecteur de 60% dans le cas du traitement NMDA/Ser, et de 57% dans le cas de la toxicité induite par le kainate.

20

Les figures 3 et 4 présentent des résultats obtenus à l'aide de l'étazolate sur les neurones corticaux. Les résultats présentés montrent que l'étazolate permet d'atteindre sur ces cellules un effet protecteur de 33% dans le cas du traitement NMDA/Ser, et de 25% dans le cas de la toxicité induite par le kainate.

25

La présente invention documente donc non seulement l'implication du PBR dans les mécanismes d'excitotoxicité, mais également la capacité d'inhibiteurs à préserver la viabilité neuronale lors de stress liés à l'excitotoxicité.

30

REVENDEICATIONS

1. Utilisation d'un ligand d'un récepteur périphérique humain aux benzodiazépine (PBR), de la famille des pyrazolopyridines, pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des déficits cognitifs chez des patients atteints de maladie neurodégénérative.
2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisée en ce que le composé est l'étazolate ou le tracazolate, de préférence l'étazolate.
3. Utilisation selon la revendication 2, caractérisée en ce que le composé est choisi parmi les composés suivants :
 - Ester éthylique de l'acide 4-butylamino-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique
 - 1-(4-amino-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-1-yl)-β-*D*-1-deoxy-ribofuranose
 - Ester éthylique de l'acide 1-ethyl-4-(*N*'-isopropylidene-hydrazino)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique (SQ 20009),
 - 4-amino-6-methyl-1-*n*-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine
 - Ester éthylique de l'acide 4-Amino-1-ethyl-6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique (desbutyl tracacolate),
 - 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxamide,
 - Ester éthylique de l'acide 1-ethyl-6-methyl-4-methylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
 - Ester éthylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-propyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
 - Ester éthylique de l'acide 1-ethyl-4-ethylamino-6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
 - Ester éthylique de l'acide 4-amino-1-butyl-6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
 - 5-(4-amino-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-1-yl)-2-hydroxymethyl-tetrahydro-furan-3-ol,

- ester allylique de l'acide 1-allyl-4-amino-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- acide 4-amino-6-méthyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 5 ester éthylique de l'acide 4-amino-1-éthyl-3,6-diméthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 10 ester éthylique de l'acide 4-diméthylamino-1-éthyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 1-éthyl-6-méthyl-4-propylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 15 ester éthylique de l'acide 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pent-4-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 20 4-amino-1-but-3-enyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-allylamide,
- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-isopropylamide,
- 25 4-amino-1-pentyl-*N*-*n*-propyl-1*H*-pyrazolo-[3,4-*b*]pyridine-5-carboxamide,
- ester allylique de l'acide 4-amino-1-butyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 30 ester éthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-prop-2-ynylamide
- 35 ester allylique de l'acide 4-amino-1-(3-méthyl-butyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo<3,4-*b*>pyridine-5-*N*-(2-propenyl)carboxamide,
- 40 ester allylique de l'acide 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-butylamide,
- 45 ester allylique de l'acide 4-amino-1-but-3-ynyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- ester allylique de l'acide 4-amino-1-but-3-enyl-6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-allylamide,
- 5 ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 10 ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-(3-methyl-butyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester isobutylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 15 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-butylamide,
- ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-(3-methyl-but-2-enyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 20 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-cyclopropylamide,
- ethyl 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-hydroxamate,
- 25 ester prop-2-ynylque de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pent-4-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 30 ester allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pent-4-enyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-amino-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-propylamide,
- 35 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-cyclopropylmethyl-amide,
- ester 2-méthyl-allylique de l'acide 4-amino-6-methyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 40 4-Amino-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-allylamide (ICI 190,622),
- 4-amino-1-pent-4-ynyl-N-2-propenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxamide,
- 4-amino-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-prop-2-ynylamide,
- 45 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-but-2-ynylamide,

- ester allylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 5 ester allylique de l'acide 4-amino-1-(2-cyclopropyl-éthyl)-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester allylique de l'acide 4-amino-1-hex-5-ynyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 10 4-amino-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-cyclopropylméthyl-amide,
- ester but-3-énylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 15 ester cyclopropylméthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-butylamino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-allylamide,
- 20 ester 2-cyclopropyl-éthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester cyclopropylméthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pent-3-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 25 ester cyclopropylméthylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pent-4-ynyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- ester éthylique de l'acide 4-amino-1-benzyl-6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 30 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-benzylamide,
- 4-amino-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-phenylamide,
- 35 ester benzylique de l'acide 4-amino-6-méthyl-1-pentyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,
- 4-Azido-1-β-D-ribofuranosylpyrazolo[3,4-*b*]pyridine,
- 40 1-pent-3-ynyl-N-2-propenyl-4-propionamido-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxamide,
- 2-(4-amino-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-1-yl)-5-hydroxyméthyl-tetrahydro-furan-3,4-diol,
- 45 2-(6-méthyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-éthanol,

- 3-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-propan-1-ol,
 ester propylique de l'acide 3-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-
 acétique,
 5 ester éthylique de l'acide 2-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-
 propionique,
 ester éthylique de l'acide 2-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-
 10 pentanoïque,
 ester éthylique de l'acide 2-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-
 benzoïque,
 15 ester propylique de l'acide 3-(6-methyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-ylamino)-
 pentanoïque,
N-benzylidene-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazine,
 20 *N*-furan-2-ylmethylene-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-
 hydrazine,
N-(4-fluoro-benzylidene)-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-
 hydrazine,
 25 *N*-(3-furan-2-yl-allylidene)-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-
 hydrazine,
N-(4-methoxy-benzylidene)-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-
 30 yl)-hydrazine,
 4-[(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-hydrazonomethyl]-
 benzonitrile,
 35 *N*-benzo[1,3]dioxol-5-ylmethylene-*N'*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-
b]pyridin-4-yl)-hydrazine,
N-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(4-nitro-benzylidene)-
 hydrazine,
 40 *N*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(2-nitro-benzylidene)-
 hydrazine,
N-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(4-trifluoromethyl-
 45 benzylidene)-hydrazine,
N-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(5-nitro-furan-2-
 ylmethylene)-hydrazine,

N-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(2-trifluoromethyl-benzylidene)-hydrazine,

- 5 *N*-(3-methyl-1-phenyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridin-4-yl)-*N'*-(6-nitro-benzo[1,3]dioxol-5-ylmethylene)-hydrazine,

Acide 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- 10 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-(pyridin-4-ylmethyl)-amide,

- 15 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-(tetrahydro-furan-2-ylmethyl)-amide,

4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-(5-hydroxy-pentyl)-amide,

- 20 4-(3-chloro-4-methoxy-benzylamino)-1-ethyl-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-[3-(2-oxo-pyrrolidin-1-yl)-propyl]-amide,

ester éthylique de l'acide 4-*tert*-butylamino-1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- 25 ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-cyclopropylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- 30 ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-propylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-phenylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- 35 ester éthylique de l'acide 4-butylamino-1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-(2-ethoxy-ethylamino)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique,

- 40 ester éthylique de l'acide 4-benzylamino-1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique, et

- 45 ester éthylique de l'acide 1-(2-chloro-2-phenyl-ethyl)-4-phenethylamino-1*H*-pyrazolo[3,4-*b*]pyridine-5-carboxylique.

4. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, pour le traitement de déficit cognitif chez un patient atteint de la maladie d'Alzheimer, de la maladie de Parkinson ou de la chorée de Huntington.
- 5 5. Utilisation de l'étazolate pour la préparation d'une composition pharmaceutique destinée au traitement des déficits cognitifs chez des patients atteints de maladie neurodégénérative, en particulier de la maladie d'Alzheimer.
- 10 6. Utilisation selon l'une quelconque des revendications précédentes, caractérisée en ce que la composition est administrée par voie orale ou systémique.

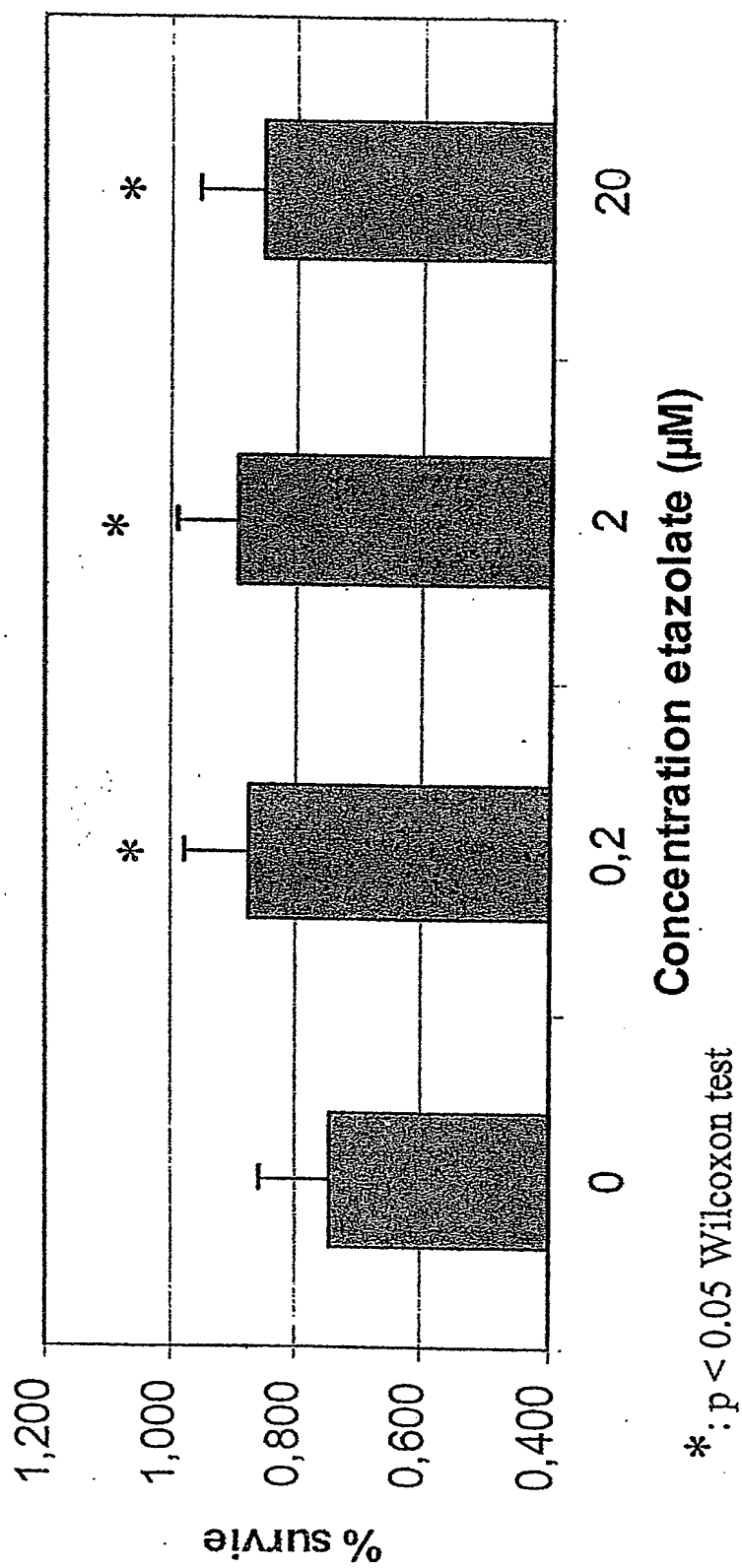
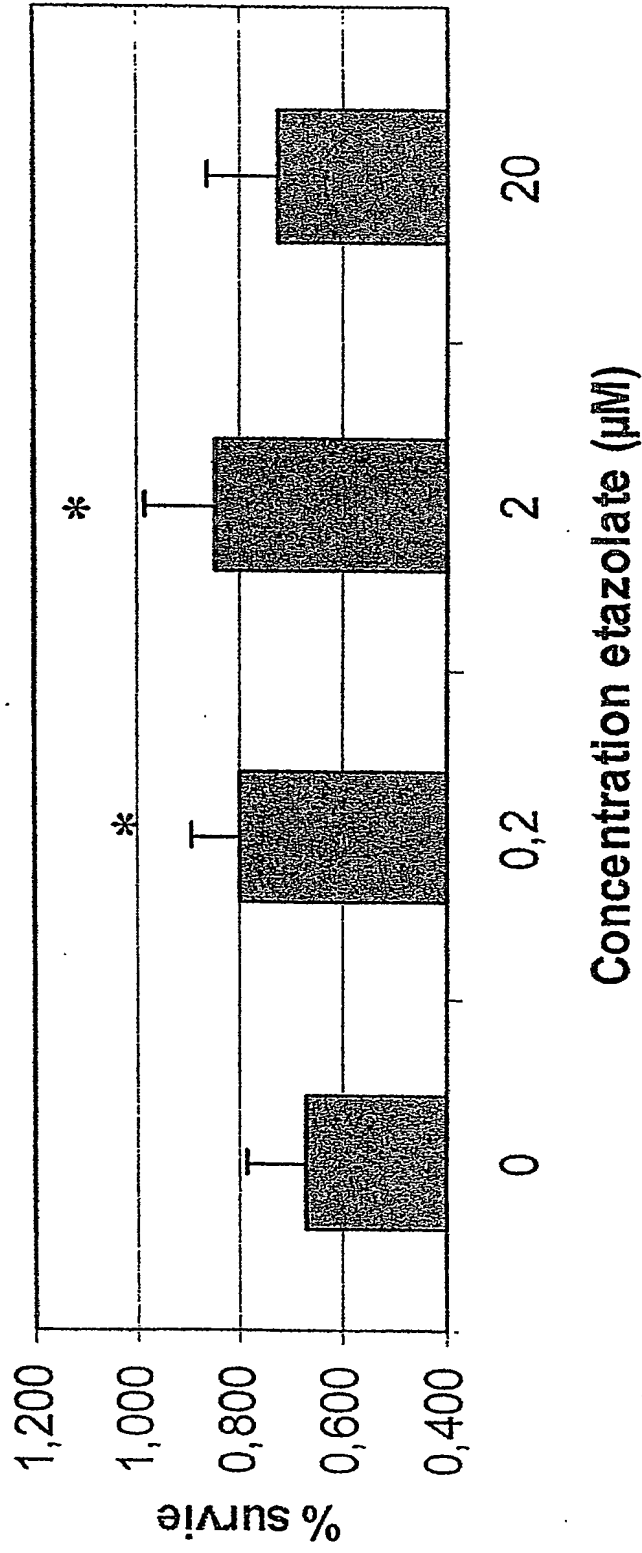
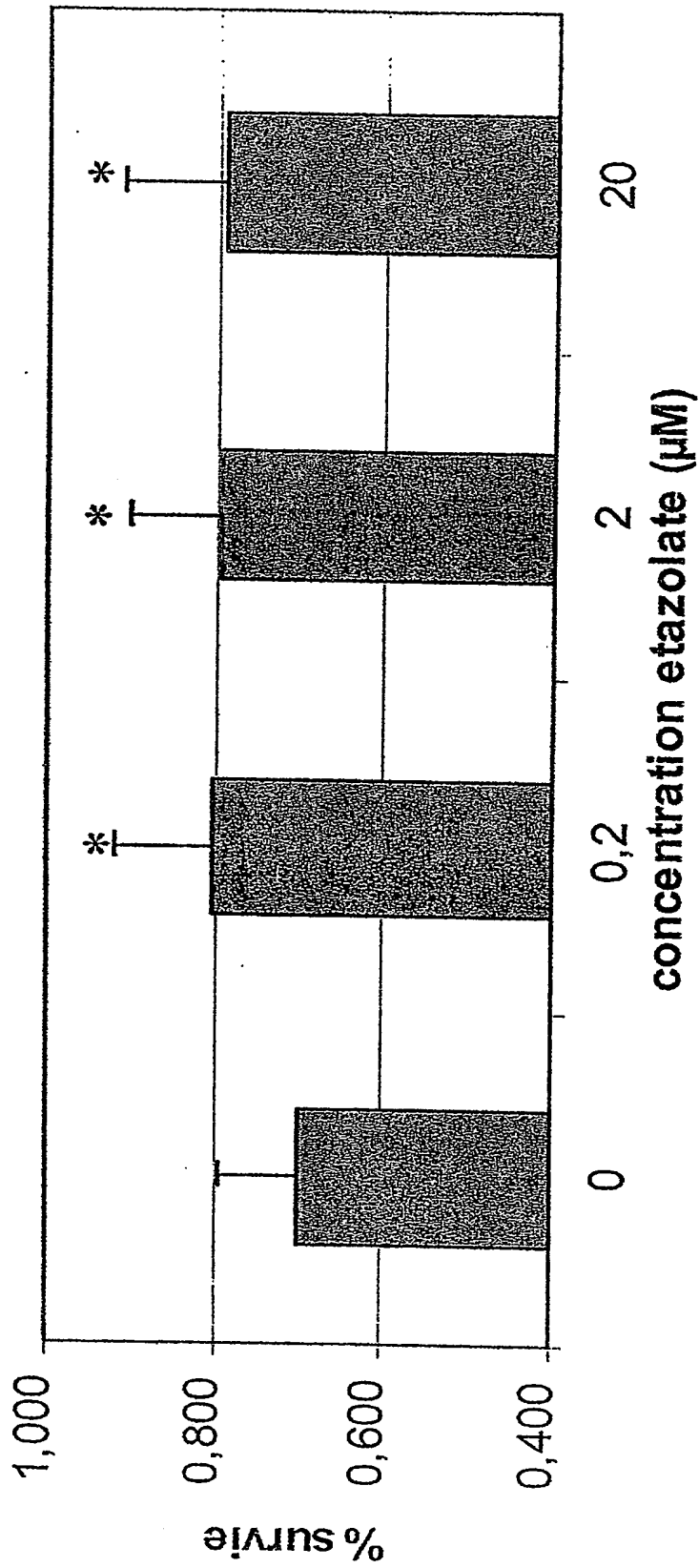


Figure 1



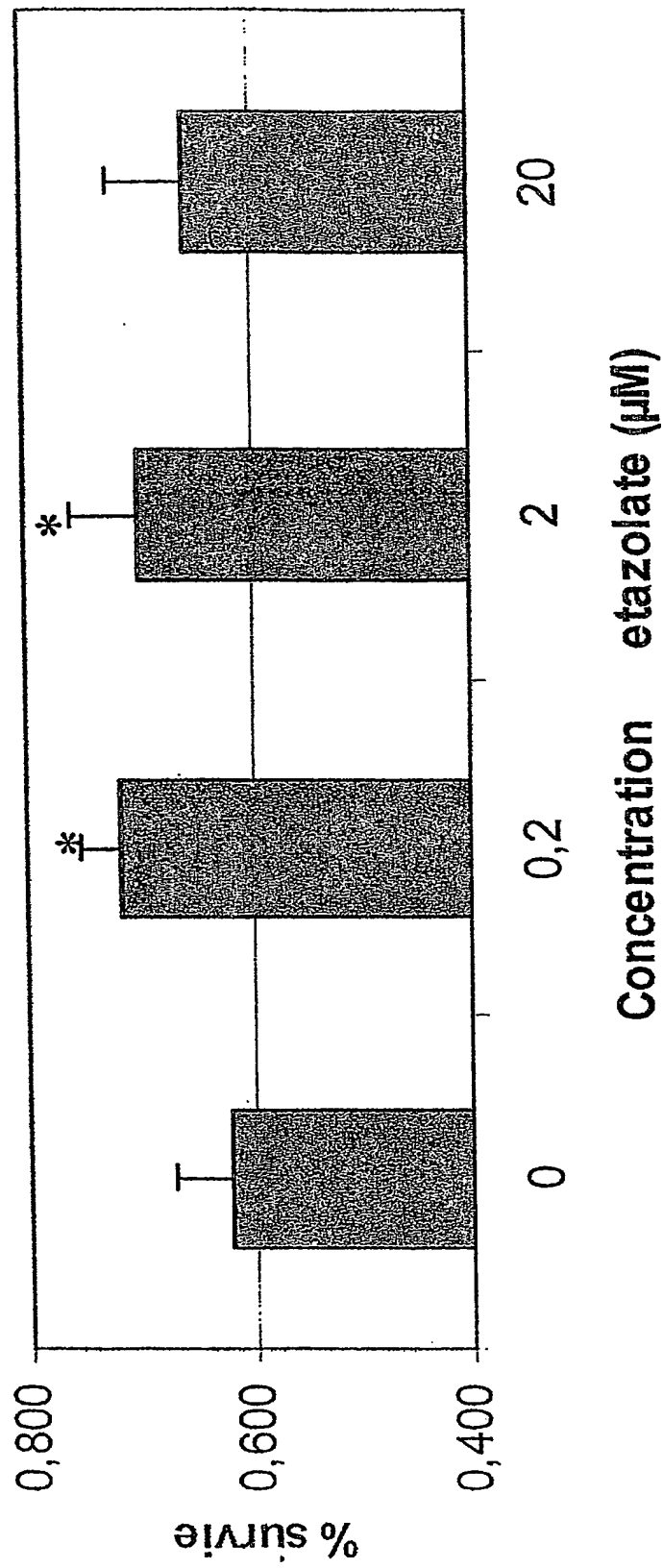
*: $p < 0.05$ Wilcoxon test

Figure 2



*: $p < 0.05$ Wilcoxon test

Figure 3



*: $p < 0.05$ Wilcoxon test

Figure 4

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 1../1..

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

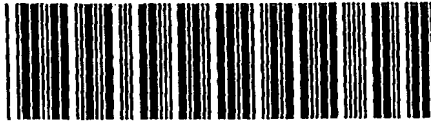


Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 @ W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)		B0221FR
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0307824
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)		
METHODES ET COMPOSITIONS POUR LE TRAITEMENT DE DEFICITS COGNITIFS.		
LE(S) DEMANDEUR(S) :		
EXONHIT THERAPEUTICS SA		
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :		
1	Nom	SCHWEIGHOFFER
	Prénoms	Fabien
Adresse	Rue	38 avenue Paul Déroulède
	Code postal et ville	94300 VINCENNES
Société d'appartenance (facultatif)		
2	Nom	DESIRE
	Prénoms	Laurent
Adresse	Rue	70 rue de l'Amiral Mouchez
	Code postal et ville	75014 PARIS
Société d'appartenance (facultatif)		
3	Nom	RESINK
	Prénoms	Annelies
Adresse	Rue	48 rue Bobillot
	Code postal et ville	75013 PARIS
Société d'appartenance (facultatif)		
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.		
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		
Paris, le 27 juin 2003 BECKER Philippe CPI n°00-97800		

PCT/FR2004/001630



THIS PAGE BLANK (USPTO)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

☐ **BLACK BORDERS**

☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**

☒ **FADED TEXT OR DRAWING**

☒ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**

☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**

☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**

☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**

☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**

☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**

☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.